

(12)

Patentschrift

(21) Anmeldenummer: A 8019/2010
(22) Anmeldetag: 20.11.2009
(45) Veröffentlicht am: 15.07.2012

(51) Int. Cl. : **A23K 1/00** (2006.01)
A23L 1/28 (2006.01)
C12N 1/06 (2006.01)

(66) Umwandlung von GM 736/2009

(56) Entgegenhaltungen:
RU 2084171 C1

S.G. Villas-Bôas e.al., World Journal of
Microbiology & Biotechnology,
Vol.19,2003,461ff

(73) Patentinhaber:
ERBER AKTIENGESELLSCHAFT
3130 HERZOGENBURG (AT)

(72) Erfinder:
GANNER ANJA MAG.
WIEN (AT)
WIEDER DOMINIK DIPL.ING. (FH)
SCHWERTBERG (AT)
DANNER HERBERT DR.
ZWENTENDORF (AT)
SCHATZMAYR GERD DR.
TULLN (AT)
BINDER EVA MARIA DR.
TULLN (AT)

(54) **VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG EINES FUTTERMITTELZUSATZES SOWIE VERWENDUNG DESSELBEN**

(57) Bei einem Verfahren zur Herstellung eines Futtermittelzusatzes, in welchem ein Fermentationsmedium, enthaltend mindestens eine Kohlenstoffquelle, Stickstoffquelle, Vitamine, Makro- und Mikroelemente, mit einer Hefekultur inokuliert wird, das mit der Hefekultur inokulierte Fermentationsmedium in einem Fermenter bei Temperaturen zwischen 25°C und 35°C für mehrere Stunden inkubiert und gegebenenfalls autolysiert wird, wobei die Autolyse über einen Zeitraum von mehreren Stunden bei leicht saurem pH-Wert und bei Temperaturen zwischen 25°C und 80°C durchgeführt wird, und anschließend einem Aufkonzentrierungs- und Trockenschritt unterworfen wird, werden dem Fermentationsmedium Pektine, Pektinbestandteile, Pektinderivate zugesetzt, und das Fermentationsmedium wird nach einem Abtrennen von flüssigen Bestandteilen und vor dem Trockenschritt einer Säurebehandlung.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung eines Futtermittelzusatzes für Monogastrier, in welchem ein Fermentationsmedium, enthaltend mindestens eine Kohlenstoffquelle, Stickstoffquelle, Vitamine, Makro- und Mikroelemente, mit einer Hefekultur inokuliert wird, das mit der Hefekultur inokulierte Fermentationsmedium in einem Fermenter bei Temperaturen zwischen 25°C und 35°C für mehrere Stunden inkubiert und gegebenenfalls autolytisch wird, wobei die Autolyse über einen Zeitraum von mehreren Stunden bei einem leicht sauren pH-Wert und bei Temperaturen zwischen 25°C und 80°C durchgeführt wird, und anschließend einem Aufkonzentrierungs- und Trockenschritt unterworfen wird. Weiterhin bezieht sich die Erfindung auf einen Futtermittelzusatz für Monogastrier enthaltend mindestens eine Kohlenstoffquelle, Stickstoffquelle, Vitamine, Makro- und Mikroelemente und getrocknete Hefen bzw. Hefebestandteile.

[0002] Die zunehmende Industrialisierung der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung und damit verbunden die Intensivtierhaltung führten zu einer großen Steigerung der Produktivität und somit zu einer kostengünstigeren Erzeugung tierischer Produkte. Mit diesen wirtschaftlichen Aspekten verbunden ist jedoch die Problematik, dass eine hohe Anzahl von Tieren auf engem Raum gehalten wird, wodurch diese Tiere einem hohen Krankheitsdruck ausgesetzt sind. Dieser Problematik wurde durch Einsatz von Antibiotika begegnet, wobei durch die exzessive Gabe von Antibiotika eine Anreicherung von gegen Antibiotika resistenten Mikroorganismusstämmen in den Exkrementen der Nutztiere herausgebildet wurde, so dass die Gefahr besteht, dass eine Verbreitung und Weitergabe der Resistenzgene aus den Mikroorganismen der Fäkalflora von Nutztieren auf andere Keime bis zu humanpathogenen Bakterien erfolgen könnte. Aus diesem Grund wurde am 1. Jänner 2006 ein EU-weites Verbot von Antibiotika als Wachstumsförderer in Futtermitteln erlassen, um die Antibiotikaresistenzen in Bakterien zu bekämpfen.

[0003] Die meisten durch Bakterien verursachten Infektionen im Verdauungstrakt von Tieren beginnen mit der Anlagerung von Bakterien an das Epithelgewebe des Wirts, wobei Glycoproteinstrukturen das Anwachsen von Bakterienkolonien ermöglichen. Diese Glycoproteinstrukturen binden an spezifische, komplementäre Kohlenhydrat -strukturen, wobei Hefezellwände, welche teilweise aus Mannan bestehen, die Eigenschaft besitzen, mit verschiedenen Bakterienstämmen zu agglutinieren. Weiterhin wurde bekannt, dass Pektin und saure Oligogalacturonide aus Pektinen diese Anhaftung von Bakterien blockieren können. Darüber hinaus wurde gefunden, dass pathogene Keime sich nicht nur in an sich bekannter Weise an Hefen bzw. Hefezellwandprodukte binden können, sondern sich auch an Galacturonsäure bzw. Galacturonsäurederivate binden können.

[0004] So ist beispielsweise aus der DE-A 4330773 die Blockierung der Anlagerung von Keimen an menschliche Zellen mit einem pharmazeutischen Präparat, welches als Wirkstoff ein Galacturonid enthält und die Verwendung dieses Präparats zur Blockierung der Anlagerung von Keimen an Säugerzellen bekannt geworden. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass verschiedene Pflanzenprodukte die Adhärenz pathogener Keime, wie beispielsweise E. coli an Epithelzellen des Magen-Darm- und Urogenitaltrakts, aufgrund des Vorhandenseins von Pektinen in den Pflanzenprodukten, wesentlich reduzieren können.

[0005] Aus dem Artikel "Bioconversion of apple pomace into a nutritionally enriched Substrate by *Candida utilis* and *Pleurotus ostreatus*" von S.G. Villas-Bôas et al., World Journal of Microbiology & Biotechnology, 19, 2003, 461ff ist die Aufbereitung von Apfeltrester entnehmbar, wobei der Apfeltrester aufgrund der darin enthaltenen Zucker und Proteine unter Zugabe von Ammoniumsalzen als Wiederkäuerfutter mit hohem Nährwert eingesetzt wird.

[0006] Der WO 03/011310 ist entnehmbar, dass Hefezellwandbestandteile, welche Mannan-Oligosaccharide enthalten, im Tierversuch Kokziodose entgegenwirken können.

[0007] Schließlich wurde von der Anmelderin die Fähigkeit von Hefezellwandprodukte enthaltenden Futtermittelzusätzen in Bezug auf die Bindungsfähigkeit von spezifischen *Salmonella* ssp. Keimen untersucht, wobei Hefezellwandfraktionen, die von *Trichosporon mycotoxinivorans*

abgeleitet sind, zum Einsatz gelangten. Bei diesen Versuchen konnte gezeigt werden, dass Hefezellwandfraktionen *Salmonella* ssp. in vitro stark binden können.

[0008] Die vorliegende Erfindung zielt nun darauf ab, die Vorteile des Einsatzes von Hefezellwandprodukten und jene von Pektinen bzw. Galacturonsäuren bzw. Galacturonsäurederivaten bei der Bekämpfung von pathogenen Keimen im Magen-Darm-Trakt zu nutzen und einen ausschließlich auf natürlichen Substanzen beruhenden Futtermittelzusatz zur Verfügung zu stellen, welcher eine gegenüber dem Einsatz von Hefezellwandprodukten und Galacturonsäurederivaten deutlich verbesserte Wirksamkeit gegenüber pathogenen Keimen aufweist sowie ein Verfahren zur Herstellung eines derartigen Futtermittelzusatzes zur Verfügung zu stellen.

[0009] Zur Lösung dieser Aufgabe ist das erfindungsgemäße Verfahren im wesentlichen dadurch gekennzeichnet, dass dem Fermentationsmedium Pektine, Pektinbestandteile, Pektinderivate zugesetzt werden und dass das Fermentationsmedium nach einem Abtrennen von flüssigen Bestandteilen und vor dem Trockenschritt einer Säurebehandlung unterworfen wird. Es hat sich überraschenderweise gezeigt, dass, wenn Hefen auf Pektinen oder deren Derivaten fermentiert werden, die resultierenden Fermentationsprodukte eine gegenüber dem Summeneffekt der Bindungsfähigkeit von Hefezellwandprodukten und Pektinen hinausgehende Bindungsfähigkeit für pathogene Keime aufweisen. In überraschender Weise bleibt diese verbesserte Pathogenbindung auch nach Aufarbeitung, d.h. nach Waschen und einer Säurebehandlung der Hefen bestehen und ist somit eindeutig nicht durch die additive Wirkung von Hefen und Pektinderivaten verursacht. Durch die Säurebehandlung wird noch eine weitere Verbesserung der Bindungsfähigkeit der mit Pektinen fermentierten Hefezellwandprodukte erzielt.

[0010] Die erfindungsgemäße Verfahrensführung ist vom Stand der Technik grundsätzlich verschieden, da üblicherweise versucht wird die Anwesenheit von Pektinen oder pektinähnlichen Substanzen in der Fermentation zu vermeiden, da dadurch einerseits das Fermentationsmedium dickflüssig wird und schwer zu bearbeiten ist, andererseits das Fermentationsprodukt von Pektinen Methanol ist, welcher sowohl für menschlichen als auch tierischen Genuss unerwünscht bzw. ungeeignet ist.

[0011] Gemäß einer bevorzugten Weiterbildung der vorliegenden Erfindung wird das Verfahren so geführt, dass dem Fermentationsmedium Pektine, Pektinbestandteile, pektinhaltige Zubereitungen und/oder Pektinderivate in einer Menge von 0,25 g/l bis 20 g/l, insbesondere von 1 g/l bis 4 g/l zugesetzt werden. In einer derartigen Verfahrensführung gelingt eine besonders starke Verbesserung der Bindungsfähigkeit der mit Pektinderivaten fermentierten Hefezellwandprodukte und es kann eine besonders stark verringerte Adhärenz von pathogenen Keimen an den Epithelzellen des Magen-Darm-Trakts von Tieren beobachtet werden. Gleichzeitig können bei einer derartigen Verfahrensführung die negativen Wirkungen von Pektinen auf die Fermentation niedrig gehalten werden.

[0012] Besonders hohe Bindungsraten von bekannten Magen-Darm-Erkrankungen hervorruhenden pathogenen Keimen, wie *E. coli* oder *Salmonella typhimurium*, können dadurch erreicht werden, dass das erfindungsgemäße Verfahren bevorzugt so geführt wird, dass in der Hefekultur wenigstens eine Hefe, gewählt aus der Gruppe *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, *Trichosporon mycotoxinivorans*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida utilis* und *Rhodotorula* sp. eingesetzt wird. Betreffend die Hefen aus dieser Gruppe hat sich herausgestellt, dass die Ergebnisse noch weiter verbessert werden können, wenn spezielle Stämme, nämlich *Saccharomyces cerevisiae* DSM 22708, *Trichosporon mycotoxinivorans* DSM 14153, *Kluyveromyces lactis* DSM 22709, *Candida utilis* DSM 22710 und *Rhodotorula* sp. eingesetzt werden, wie dies einer bevorzugten Weiterbildung der Erfindung entspricht. Bei einer derartigen Verfahrensführung können die Fermentationsprodukte unmittelbar nach der Aufarbeitung und ohne weitere Behandlung z.B. als Futtermittelzusatz eingesetzt werden, wobei die Bindungsfähigkeit der mit den Pektinen bzw. Pektinbestandteilen gemäß dem erfindungsgemäßen Verfahren fermentierten Hefezellwandprodukte gegenüber herkömmlichen mit Hefezellwandprodukten bzw. Pektinen versetzten Futtermitteln deutlich überlegen ist. Bei einer Untersuchung der mit Pektinen bzw. Pektinbestandteilen fermentierten, speziellen Hefen konnte nachgewiesen werden, dass

Bestandteile der Pektine, insbesondere Glucuronsäurereste und deren Derivate in die Mannanketten der Hefezellwände eingebaut wurden und dadurch die Bindungsfähigkeit der Hefezellwände an pathogene Keime signifikant verbessert wurde. Weiterhin wird durch Auswahl der Hefen aus den erfindungsgemäßen Gruppen bzw. durch Auswahl spezifischer Stämme die Bindungsfähigkeit gegenüber pathogenen Keimen noch weiter verbessert, so dass insbesondere die mit einem derartigen Futtermittelzusatz gefütterten Tiere eine erhöhte Leistungsfähigkeit im Vergleich zu mit herkömmlichen Futtermittelzusätzen und auch zu mit Antibiotika gefütterten Tieren besitzen.

[0013] Um die Hefezellwandprodukte, insbesondere die mit Pektinbestandteilen bzw. mit Pektinen fermentierten Hefezellwandprodukte durch die Säurebehandlung nicht zu schädigen, wird das erfindungsgemäße Verfahren bevorzugt so geführt, dass die Säurebehandlung durch Resuspendieren von festen Bestandteilen des Fermentationsmediums, insbesondere Hefezellwänden, in einer verdünnten organischen Säure, vorzugsweise Essigsäure, Zitronensäure oder Ameisensäure vorgenommen wird. Bei einer Säurebehandlung mit verdünnten, organischen Säuren, wie Essigsäure, Zitronensäure oder Ameisensäure, insbesondere bei einer Inkubation bei erhöhten Temperaturen, beispielsweise 50 °C bis 80 °C, konnte die Bindungsfähigkeit gegenüber einzelnen pathogenen Stämmen noch weiter verbessert werden.

[0014] Um die Bindungsfähigkeit gegenüber pathogenen Keimen noch weiter zu erhöhen, wird gemäß einer bevorzugten Weiterbildung der Erfindung das Verfahren so geführt, dass im Fermentationsmedium Zubereitungen aus pektinhaltigen Pflanzen bzw. pektinhaltigen Pflanzenbestandteilen, wie Isländisch Moos, Erdbeerblätter, Kranbeeren, Karotten, Äpfel, Apfeltrester oder dgl., enthalten sind. Indem in dem Fermentationsmedium Zubereitungen aus pektinhaltigen Pflanzen bzw. pektinhaltigen Pflanzenbestandteilen enthalten sind, insbesondere Zubereitungen aus Pflanzen, welche einen hohen Pektingehalt aufweisen, wie z.B. Isländisches Moos, Erdbeerblätter, Kranbeeren, Karotten, Äpfel, Apfeltrester und dgl., wird eine weitere Verbesserung des Anhaftens von pathogenen Keimen an dem Futtermittelzusatz erzielt. Insbesondere wird bei Zusatz von derartigen Zubereitungen aus pektinhaltigen Pflanzen sichergestellt, dass keinerlei synthetische bzw. halbsynthetische Produkte in dem hergestellten Futtermittelzusatz enthalten sind, so dass ein derartiger Futtermittelzusatz auch in der biologischen Landwirtschaft einsetzbar ist.

[0015] Die vorliegende Erfindung zielt weiters darauf ab, einen gemäß dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Futtermittelzusatz zur Verfügung zu stellen, mit welchem pathogene Keime im Magen-Darm-Trakt von Tieren immobilisiert werden. Zur Lösung dieser Aufgabe ist der erfindungsgemäße Futtermittelzusatz dadurch gekennzeichnet, dass Pektin, Pektinbestandteile oder Pektinderivate enthaltende Hefezellwände sowie wenigstens eine Säure vorzugsweise Essigsäure, Ameisensäure oder Zitronensäure enthalten ist. Indem in dem Fermentationsmedium Pektin, Pektinbestandteile bzw. Pektinderivate sowie wenigstens Träger enthalten sind, gelingt es, einen Futtermittelzusatz zur Verfügung zu stellen, welcher im Vergleich mit sowohl nicht fermentierten Pektinbestandteilen als auch mit nicht unter Zusatz von Pektinen oder Pektinderivaten fermentierten Hefekulturen eine bedeutend höhere Bindungsfähigkeit gegenüber pathogenen Keimen des Magen-Darm-Trakts aufweist und überdies aus ausschließlich natürlichen Bestandteilen besteht, weshalb für einen derartigen Futtermittelzusatz keinerlei Sperrfristen von Seiten der EU bestehen. Indem zusätzlich wenigstens ein Träger enthalten ist, kann eine weitere Verbesserung der Aufnahme von pathogenen Keimen durch Immobilisierung auf dem Träger erzielt werden, so dass in der Folge die Leistungsfähigkeit der Nutztiere gesteigert werden kann.

[0016] Um die Bindungsfähigkeit des Futtermittelzusatzes für pathogene Keime noch weiter zu verbessern, enthält der erfindungsgemäße Futtermittelzusatz in bevorzugter Weise mittels einer verdünnten, organischen Säure, vorzugsweise Essigsäure, Ameisensäure oder Zitronensäure, behandelte Hefen bzw. Hefebestandteile. Die erhöhte Bindungsfähigkeit von pathogenen Keimen durch einen unter Einsatz von verdünnten, schwachen, organischen Säuren behandelten Futtermittelzusatz gemäß der Erfindung ist dahingehend überraschend, da säurebehandelte Produkte üblicherweise von unerwünschten Nebenprodukten gereinigt sind, jedoch keine ver-

besserte Bindungsfähigkeit zeigen. Im vorliegenden Fall wird angenommen, dass durch die Säurebehandlung die Bindungsfähigkeit der Hefezellwände an pathogene Keime noch weiter verbessert ist, so dass mit dem erfindungsgemäßen Futtermittelzusatz bei Einsatz kleiner Mengen sehr hohe Bindungsraten der pathogenen Keime erzielt werden.

[0017] Indem, wie dies einer bevorzugten Weiterbildung der vorliegenden Erfindung entspricht, dem Futtermittelzusatz zusätzlich wenigstens ein Mikroorganismus, gewählt aus *Eubacterium* sp. DSM 11798, *Enterococcus faecium* DSM 19746, DSM 3530, DSM 16211 und DSM 21913, *Lactobacillus salivarius* DSM 21286 und DSM 16351, *Bifidobacterium thermophilum* DSM 19765, *Bifidobacterium animalis* DSM 16284, *Pediococcus acidilactici* DSM 16210, *Lactobacillus sobrius* DSM 21285, *Lactobacillus reuteri* DSM 21288 und DSM 21443 zugesetzt ist, kann die Bindungsfähigkeit des Futtermittelzusatzes gegenüber pathogenen Keimen noch weiter verbessert werden, insbesondere kann die Leistungsfähigkeit der Tiere noch weiter erhöht werden.

[0018] Gemäß einer bevorzugten Weiterbildung der vorliegenden Erfindung ist der erfindungsgemäße Futtermittelzusatz dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich ein Träger ausgewählt aus Bentoniten, Zeolithen, Calciumkarbonat, Magnesiumkarbonat, Albumin, Stärke, Süßmolkepulver, Maltodextrinen, Lactose, Inulin, Dextrosen, oder als Träger einsetzbare Nährsubstanzen und/oder prebiotische Substanzen, gewählt aus Fructo-Oligosacchariden, Inulinen, Isomalto-Oligosacchariden, Lactitol, Lactosucrose, Lactulose, Pyrodextrinen, Soja-Oligosacchariden, Transgalacto-Oligosacchariden, Xylo-Oligosacchariden, Vitaminen enthalten sind. Indem dem erfindungsgemäßen Futtermittelzusatz spezifische Träger beigefügt werden, gelingt es, einen an den spezifischen Einsatzzweck angepassten Futtermittelzusatz zur Verfügung zu stellen, wobei beispielsweise bei Einsatz von als Träger verwendbaren Nährsubstanzen und/oder probiotischen Substanzen die Leistungssteigerung von Nutztieren noch weiter erhöht werden kann.

[0019] Mit einem derartigen Futtermittel gelingt eine deutliche Leistungssteigerung von Tieren und überdies werden die Ausfälle in Zuchtbetrieben deutlich herabgesetzt.

[0020] Die Erfindung wird nachfolgend anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert.

BEISPIEL 1: FERMENTATIONSVERSUCHE

[0021] Eingesetzte Mikroorganismen: *Saccharomyces cerevisiae* (DSM 22708), *Trichosporon mycotoxinivorans* (DSM 14153), *Saccharomyces boulardii* BIO 235 und BIO 236, *Kluyveromyces lactis* (DSM 22709) und *Candida utilis* (DSM 22710).

[0022] Alle Fermentationen wurden in 1 l Schikanekolben durchgeführt. Die Medienbestandteile wurden in 350 ml destilliertem Wasser gelöst, mit 2 - 3 Tropfen Antischaummittel versetzt und mit Na-OH oder H₃PO₄, z.B. bei *Saccharomyces*-Fermentation auf pH 5,6 und bei *Trichosporon mycotoxinivorans*-Fermentation auf pH 4,5 eingestellt und 21 min bei 121 °C autoklaviert. Die Fermentationsmedien wurden unter sterilen Bedingungen mit 2 ml Hefekultur inokuliert und in einem Schüttelinkubator bei 30 °C und 130 U/min 21 h bis 24 h fermentiert. Die Fermentation wurde beendet, wenn die OD einer 1 : 10-Verdünnung der Fermentationsbrühe mit physiologischer Kochsalzlosung bei einer Wellenlänge von 650 nm über 1,0 lag.

[0023] Danach wurden die Hefen entweder direkt auf ihre Bindungsfähigkeit gegenüber pathogenen und probiotischen Keimen untersucht, oder zuerst autolysiert. In beiden Fällen wurden die Fermentationsbrühen abgetrennt und das erhaltene Pellet in destilliertem Wasser resuspendiert. Im Falle der Autolyse erfolgte eine Inkubation in Phosphatpuffer z.B. bei 50 °C, 24 h. Die Zellwände wurden nach der Autolyse abgetrennt, ggf. mit Essigsäure behandelt, und auf ihre Bindungseigenschaften gegenüber den nachfolgend genannten Keimen untersucht.

[0024] Hierzu wurden 1 %ige Hefe-Zellwandsuspensionen oder Zellsuspensionen in PBS Puffer hergestellt und Verdünnungsreihen erstellt. Je 100 µl wurden in Mikrotiterplattenwells bzw. -Vertiefungen überführt und für einige Stunden inkubiert; danach wurden 100 µl einer 3 h alten *E. coli*, *Salmonellen*- oder *Milchsäurebakterien*kultur in einer Verdünnung im Bereich von 10⁻¹ bis 10⁻⁸ in gewaschene und mit 300 µl BSA (1 %ig) beschichtete (1 h, 4 °C) und wieder gewa-

sche Wells überführt. Die Platten wurden 1 h bei 37 °C inkubiert und danach gewaschen, um die Keimsuspension zu entfernen. Nur an Hefezellen oder Hefezellwände gebundene Keime blieben in der Vertiefung erhalten. Nach Zugabe von je 200 µl Trypton-Soja-Medium zu jedem Well und im Vergleich zu frisch aufgetragenen Verdünnungsreihen der jeweils zu messenden Keime wurde über einen Zeitraum von 18 h und mit Messungen im Abstand von jeweils 15 min die Wachstumskurve der jeweiligen Keime im Vergleich zu Kontrollkulturen erstellt. Zur Berechnung der Anzahl der an die Hefezell- und Hefezellwandproben gebundenen Keime wurde die Detektionsschwelle des exponentiellen Wachstums herangezogen und mit den Vergleichsproben verglichen. Es wurde der Mittelwert aus drei Wiederholungen ermittelt. Im Fall, dass dieser Mittelwert aufgrund der Messungenauigkeit über dem Kontrollwert lag, d.h., dass keine Bindung erfolgte bzw. bei einer errechneten Bindung von weniger als 1 %, erfolgt die Darstellung in Tabelle 1 durch „—“, d.h., keine Bindung. Die Angabe „n.a.“ bedeutet nicht analysiert.

[0025] Eingesetzte Testkeime:

[0026] Pathogene: Escherichia coli (E. coli), Salmonella typhimurium (S. typhimurium, S. typh.)

[0027] Milchsäurebakterien: Enterococcus faecium IMB 53 (IMB 52), Lactobacillus salivarius (L. sal.)

[0028] Tabelle 1

	Hefe	Durchschnittliche % Bindung von Testkeimen				
Fermentations-Medienbestandteile		E. coli BIO 03	E. coli BIO 19	S. typh.	L. sal.	IMB52
Saccharose: 35 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer.	3,97	5,12	4,11	-	-
Saccharose: 25 g/l, Fructose: 5 g/l, Glucose: 5g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	10,06	8,34	3,29	4,52	3,68
Saccharose: 25 g/l, Fructose: 10 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	11,07	4,28	6, 84	2,23	3,47
Saccharose: 25 g/l, Galactose: 10 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	6, 67	9, 53	5, 61	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Glucose: 10 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	9, 89	6, 61	3,47	4,79	8,41
Saccharose: 35 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Tri- chosp. Myc.	3,97	5,12	4,11		
Saccharose: 25 g/l, Fructose: 5 g/l, Glucose: 5g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Tri- chosp. Myc.	7,54	6,53	2,12	1,92	3,91
Saccharose: 25 g/l, Fructose: 10 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Tri- chosp. Myc.	8,02	2,16	4,81	1,81	5,11
Saccharose: 25 g/l, Galactose: 10 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Tri- chosp. Myc.	4,31	4,13	5,61	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Glucose: 10 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Tri- chosp. Myc.	5,82	6,41	8,12	n.a.	n.a.

Saccharose: 35 g/l, Methyl-[α]-D- mannopyranosid: 0,28 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Cand. Utilis	1,24	1,85		n.a.	n.a.
Saccharose: 30 g/lL, Rhamnose Monohydrat: 5 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Cand. Utilis	5,39	7,12	1, 77	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Arabinose: 2 g/l, Galactose: 2 g/l, Xylose: 2 g/l, Rhamnose	Cand. Utilis	4,23	6, 17	8,15	n.a.	n.a.
Monohydrat: 2 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l						
Saccharose: 25 g/l, Ethanol: 5 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Cand. Utilis	9,96	12,02	7,63	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Ethanol: 15 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Klyv. Lactis	11, 37	13,16	9,69	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Maltose Monohydrat: 10,53 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Klyv. Lactis	6,56	4,72	8,11	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Lactose Monohydrat: 10,53 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	3,23	2,56	4,59	n.a.	n.a.
Saccharose: 35 g/l, NaCl: 10 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	5,43	1,98		n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Glycerol: 11,14 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	7,12	8,69	12,09	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Trehalose: 0 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	2,04	9,02	1,64	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/lL, Mannitol: 10 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	9,26	5,96	3,43	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Pektin: aus Äpfeln: 2,5 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	33,17	54,21	23,91		
Saccharose: 25 g/l, Pektin: aus Äpfeln: 5 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	21,6	57,19	44,78		
Saccharose: 25 g/l, Pektin: aus Äpfeln: 7,5 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	36,14	44,63	52,33	2,83	

Saccharose: 25 g/l, Galacturonsäure: 2,5 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	s. cer	12,9	31,72	27,46	5,18	1,04
Saccharose: 25 g/l, Glucuronsäure: 2,5 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	21,6 u. 43,8	27,62	52,96		
Saccharose: 25 g/l, Pektin: Violettband roh, Apfel OP: 3 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Tri- chosp. Myc	13,07	23,49	18,04	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Pektin: Violettband roh, Apfel OP: 6 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Tri- chosp. Myc	35,69	42,48	29,42	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Pektin: Braunband rein OP: 3 g/l, Hefeex- trakt: 10 g/l	Candida ut	35,39	29,73	41,73	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/L, Pektin: Braunband rein OP: 6 g/l, Hefeex- trakt: 10 g/l	Candida Ut	12,68	33,50	39,80		
Saccharose: 25 g/l, Pektin: Amid roh, Apfel 30/20 OP: 3 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Cand. Ut	59,76	38,14	41,92	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Pektin: Amid roh, Apfel 30/20 OP: 6 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Klyve- rokac	35,69	66, 51	48,57	n.a.	n.a.
Saccharose: 25 g/l, Glucuronsäure: 2,5 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	S. cer	36,15 u. 100	59,34	28,43		
Saccharose: 25 g/l, Glucuronsäure: 2,5 g/l, Hefeextrakt: 10 g/l	Tri- chosp. myc	64,11	58,32	33,93	2,13	5,87
Saccharose: 25 g/l, Glucuronsäure: 5 g/l, Hefeextrakt: 10 g/L, Melasse 40g/l;	S. cer	59,76	68,7	33,41		

[0029] Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, dass die Bindungseigenschaft für pathogene Keime von Produkten gemäß der vorliegenden Erfindung deutlich über jener lag, welche nicht durch Zusatz von Pektinen oder Pektinderivaten im Medium fermentiert wurden.

BEISPIEL 2: FERMENTATION VERSCHIEDENER SACCHAROMYCES CEREVISIAE STÄMME UND VERGLEICH DER PATHOGENBINDUNGSEIGENSCHAFTEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DER ANWESENHEIT VON PEKTIN.

[0030] Fünf verschiedene Hefestämme wurden in einem Parallel Reaktor System von DASGIP Technology fermentiert. Hierbei wurde jeder Stamm zweimal kultiviert, wobei jeweils eine Fermentation unter Zusatz von Pektin geführt wurde, die zweite nicht. Die Produkte aus den einzelnen Fermentationen wurden in je 2 Chargen aufgeteilt, wobei eine direkt in den nachfolgenden Tests eingesetzt wurde und die 2. Charge wurde einer Essigsäurebehandlung unterzogen. Dafür wurde das Hefezellwandprodukt im Verhältnis 1:10 (w/w) in 0,5 N Essigsäure suspendiert und 1 h bei 75°C inkubiert.

[0031] Die Hefezellwandbestandteile werden anschließend erneut zentrifugiert, gewaschen und anschließend getrocknet.

[0032] Die eine Hälfte der Fermentationslösung jedes Ansatzes wurde mit Säure behandelt, die andere nicht. Die Aufarbeitung und Bestimmung der Pathogenbindung erfolgte im Wesentlichen wie in Beispiel 1 beschrieben.

[0033] Fermentationsstämme:

[0034] *Trichosporon mycotoxinivorans* (DSM 14153)

[0035] *Saccharomyces cerevisiae* sp (DSM 22708)

[0036] *Kluyveromyces lactis* (DSM 22709)

[0037] *Saccharomyces boulardii* BIO 235 und BIO 236

[0038] Tabelle 2 zeigt die durchschnittliche Bindung (drei Wiederholungen der Bindungsversuche von je zwei Parallel-Fermentationen) pathogener Keime (*E. coli*, *S. typhimurium*) an verschiedene Hefeprodukte

[0039] Bindung < 10 %: -

[0040] Bindung zwischen 10 und 20 %: +/-

[0041] Bindung zwischen 20 und 30 %: +

[0042] Bindung zwischen 30 und 50 %: ++

[0043] Bindung > 50 %: +++

[0044] Tabelle 2

	Säurebe- handlung	Pektinzugabe in der Fermentation	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>
<i>Trichosporon mycotoxini- vorans</i>	Ja	Nein	-	-
<i>Trichosporon mycotoxini- vorans</i>	Ja	Ja	+++	+++
<i>Trichosporon mycotoxini- vorans</i>	Nein	Nein		+/-
<i>Trichosporon mycotoxini- vorans</i>	Nein	Ja	+++	+++
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ja	Nein	+/-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ja	Ja	+++	++
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Nein	Nein	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Nein	Ja	+++	++
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Ja	Nein	-	-

Klyveromyces lactis	Ja	Ja	+++	++
Klyveromyces lactis	Nein	Nein	-	-
Klyveromyces lactis	Nein	Ja	++	+
Candida utilis	Ja	Nein	-	+/-
Candida utilis	Ja	Ja	+++	++
Candida utilis	Nein	Nein	-	-
Candida utilis	Nein	Ja	+++	+++
Saccharomyces cerevisiae + Pektin (10 %)	Nein	Nein	+/-	+/-
Saccharomyces cerevisiae + Pektin (5 %)	Nein	Nein	+/-	-
Saccharomyces cerevisiae + Pektin (3 %)	Nein	Nein	+/-	
Saccharomyces cerevisiae + Glucuronsäure (5 %)	Nein	Nein	-	
Saccharomyces cerevisiae + Glucuronsäure (3 %)	Nein	Nein	+/-	+/-
Saccharomyces cerevisiae + Glucuronsäure (1 %)	Nein	Nein	-	-
Saccharomyces boulardii + Glucuronsäure (5 %)	Nein	Nein		
Pektin	Nein	Nein	-	-
Glucuronsäure	Nein	Nein	-	-

[0045] Aus Tabelle 2 ist zu ersehen, dass die besten Ergebnisse erzielt werden können, wenn während der Fermentation Pektin zugesetzt war und sowie ggf. anschließend eine Säurebehandlung durchgeführt wurde. Die Verbesserung gegenüber einer Fermentation ohne Pektin geht hierbei weit über den Summeneffekt hinaus.

BEISPIEL 3: VERGLEICH DES EFFEKTS VERSCHIEDENER HEFEZELLWANDPRODUKTE BEI NATÜRLICHER E. COLI CHALLENGE IN DER FERKELAUFGZUCHT EINES PROBLEMBETRIEBS.

[0046] Ferkel mit einem Anfangsgewicht von etwa 8,3 bis 8,5 kg wurden in vier Gruppen eingeteilt und einem Fütterungsversuch unterworfen, wobei eine Vergleichsgruppe ein gängiges Ferkelfutter erhielt (Kontrolle) und bei drei Gruppen dem gängigen Ferkelfutter 0,2 % ein Futterzusatz bestehend aus Hefezellwandprodukten zugesetzt war, und zwar Gruppe 1 wurden Hefezellwände von unbehandelter Saccharomyces cerevisiae verfüttert, Gruppe 2 wurden Hefezellwände von Saccharomyces cerevisiae aus einer Fermentation mit Pektin verfüttert und Gruppe 3 wurden Hefezellwände von Saccharomyces cerevisiae aus einer Fermentation mit Pektin und einer nachfolgenden Säurebehandlung verfüttert. Die Ergebnisse des Fütterungsversuchs sind in Tabelle 3 gezeigt.

[0047] Tabelle 3

Gewicht in kg	Kontrolle	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Dosierung (%)		0,2	0,2	0,2
Tierzahl	27	27	27	27
Anfangsgewicht	8,41	8,51	8,34	8,44
Gewicht Tag 14	10,67	10,45	11,19	11,39
Gewicht Tag 42	25,77	25,92	27,51	27,68
Gewicht Tag 56	35,12	35,81	38,41	38,77
Mortalität	2	1		

Absolut-Gewichts- Zunahmen in kg	Kontrolle	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Tag 1-14	2,26	1,94	2,85	2,95
Tag 15-42	15,1	15,47	16,32	16,29
Tag 1-42	17,36	17,41	19,17	19,24
Tag 43-56	9,35	9,89	10,9	11,09
Tag 15-56	24,45	25,36	27,22	27,38
Tag 1-56	26,71	27,3	30,07	30,33
Durchschnittliche Zunahme pro Tag über den gesam- ten Zeitraum [g]	477	487,5	537	542
Durchfallhäufig- keit	+++	+++	+	+

[0048] (Durchfallhäufigkeit: +++ hoch: mehr als 20 Tiere betroffen; ++ mittel: ungefähr die Hälfte betroffen; + kaum: weniger als fünf Tiere betroffen)

[0049] Aus Tabelle 3 ist ersichtlich, dass bei Verabreichung der erfindungsgemäß mit Pektin fermentierten Hefezellwandprodukte (Gruppe 2 und Gruppe 3) die Tiere einerseits eine bedeutend höhere Gewichtszunahme und somit eine höhere Leistung zeigten und andererseits die Mortalität und die Durchfallhäufigkeit massiv abgesenkt werden konnten.

BEISPIEL 4: E. COLI CHALLENGE VERSUCH

[0050] 48 Ferkel mit einem Durchschnittsgewicht von 10,5 kg wurden in 4 Gruppen à 12 Tiere aufgeteilt und in jeweils eine Einstallbox pro Gruppe gebracht; alle erhielten dasselbe Standardfutter ab dem Tag der Einstellung und danach für zehn Tage ebenfalls dieselbe Futterformulierung sowie zusätzlich die in Tabelle 4 angeführten Futterzusätze (Kontrolle; Gruppe 1: Hefezellwände, unbehandelt; Gruppe 1: Hefezellwände aus Fermentation mit Pektinzusatz; Gruppe 3: Hefezellwände aus Fermentation mit Pektinzusatz und nachfolgender Säurebehandlung). Nach einer Eingewöhnungsphase von 7 Tagen erfolgte bei jedem einzelnen Tier ein Rektalabstrich zur Statusfeststellung der E. coli Kontamination. Keines der Tiere wurde auf E. coli K 88 positiv getestet. In der Folge wurde über einen Zeitraum von 10 Tagen eine tägliche E. Coli K 8 challenge durchgeführt, wobei mittels einer Spritze eine orale Dosis einer E. coli Suspension in Wasser verabreicht wurde. Die dabei eingesetzte Menge von Escherichia coli K 88 war $5,5 \cdot 10^{10}$ Zellen pro Ferkel. Während des Challenge-Zeitraumes sowie darüber hinaus erhielten die Tiere weiterhin das Standardfutter mit den angeführten Zusätzen. 48 h nach der letzten E. Coli challenge wurde wieder ein Rektalabstrich durchgeführt und mittels Immunoblot mit Kaninchen-Antikörpern gegen E. coli K88 getestet.

[0051] Tabelle 4 (mit positiv getesteten Ferkeln)

% Positiv detektierte Schweine	Kontrolle	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Dosierung (%)		0,2	0,2	0,2
Tierzahl	12	12	12	12
Anzahl positiv getesteter Ferkel	12	12	6	4
% positive getesteter Ferkel	100	100	50	33

[0052] Aus der Tabelle 4 ist ersichtlich, dass die Prozent positiv getesteten Ferkel bei Einsatz eines Futtermittelzusatzes gemäß der vorliegenden Erfindung (Gruppe 2 und Gruppe 3) auf

wenigstens die Hälfte herabgesetzt werden konnte.

BEISPIEL 5: E.COLI CHALLENGE VERSUCH

[0053] 28 etwa gleich schwere Ferkel wurden unmittelbar nach dem Absetzen in sieben Gruppen aufgeteilt und in jeweils eine Einstall-Box pro Gruppe gebracht. Sie erhielten herkömmliches Absetzfutter, das mit den in Tabelle 5 angeführten Futtermittelzusätzen versetzt war (Konzentration: 0,1 %). Am zweiten und dritten Tag nach dem Absetzen wurde den Ferkeln jeweils 5 ml einer Lösung enthaltend E. coli 0149 oral mittels einer Kunststoffspritze zugeführt (Dosis pro Verabreichung: 1×10^8 Koloniebildende Einheiten (KBE) E. coli 0149, in physiologischer Kochsalzlösung).

[0054] Tabelle 5: Futtermittelzusatz (jeweils 0,2 %)

	Futtermittelzusatz
Gruppe 1	Kommerzielle Bierhefe
Gruppe 2	Hefezellwandprodukt <i>S. cerevisiae</i>
Gruppe 3	Produkt aus <i>Trichosporon mycotoxinivorans</i> , mit Pektin im Fermentationsmedium
Gruppe 4	Produkt aus <i>Trichosporon mycotoxinivorans</i> , mit Pektin im Fermentationsmedium und säurebehandelt
Gruppe 5	Zellwände aus <i>Trichosporon mycotoxinivorans</i> , mit Pektin im Fermentationsmedium
Gruppe 6	Produkt aus <i>Kluyveromyces</i> sp., mit Pektin im Fermentationsmedium
Gruppe 7	Produkt aus <i>Kluyveromyces</i> sp., mit Pektin im Fermentationsmedium und säurebehandelt

[0055] Die Tiere wurden täglich von einem Tierarzt untersucht und die durchschnittliche Konsistenz des Kotes bewertet. Die Bewertung des Kotes war eine numerische mit einem Punktesystem von 1 bis 4: 1 - normaler (fester) Kot; 2 - pastös; 3 - halbflüssig bis flüssig; 4 - gelblich bis wässrig

[0056] Die nachfolgende Tabelle 6 zeigt die Bewertung der Kotkonsistenz am 1. und 2. Tag nach der zweiten E. coli Gabe.

[0057] Tabelle 6

	Tag 1	Tag 2
Gruppe 1	4	4
Gruppe 2	4	4
Gruppe 3	2	2-3
Gruppe 4	2	2
Gruppe 5	1-2	2
Gruppe 6	2	2
Gruppe 7	1-2	2

[0058] Dem Versuch ist klar entnehmbar, dass jene Tiere, welche ein Produkt aus speziellen Hefen bzw. Hefezellwänden, die mit Pektin im Fermentationsmedium behandelt wurden bzw. zusätzlich noch säurebehandelt wurden, eine bedeutend bessere Kotkonsistenz aufwiesen (Gruppe 3 bis Gruppe 7).

BEISPIEL 6

[0059] Beispiel 6 wurde analog zu Beispiel 5 durchgeführt, jedoch wurden die in Tabelle 7 aufgelisteten Futtermittelzusätze getestet.

[0060] Tabelle 7

	Futterzusatz
Gruppe 1	<i>S. cerevisiae</i> Zellwandprodukt mit Pektin-zusatz im Fermentationsmedium + Nach-behandlung mit Säure
Gruppe 2	Trichosporon Zellwandprodukt mit Pektin-zusatz im Fermentationsmedium + Nach-behandlung mit Säure
Gruppe 3	<i>S. cerevisiae</i> Zellwandprodukt mit Pektin-zusatz im Fermentationsmedium
Gruppe 4	Trichosporon Zellwandprodukt mit Pektin-zusatz im Fermentationsmedium
Gruppe 5	<i>S. cerevisiae</i> Zellwandprodukt, gemischt mit Pektin
Gruppe 6	Trichosporon Zellwandprodukt, gemischt mit Pektin
Gruppe 7	Pektin

	Tag 1	Tag 2
Gruppe 1	2	1 - 2
Gruppe 2	1 - 2	2
Gruppe 3	2	2
Gruppe 4	2	2 - 3
Gruppe 5	3 - 4	4
Gruppe 6	3 - 4	3 - 4
Gruppe 7	3 - 4	4

[0061] Aus den Ergebnissen dieses Versuchs kann erkannt werden, dass, auch wenn die Tiere ein Futtermittelzusatz verabreicht wurde, welcher sowohl Hefezellwandprodukte als auch Pektin enthielt oder nur Pektin allein enthielt, welche Produkte jedoch bei der Fermentation jedoch keinen Zusatz von Pektinen oder Pektinderivaten im Medium enthalten hatten, diese eine extrem schlechte Stuhlkonsistenz zeigten im Vergleich zu den Tieren, welche einen Futtermittelzusatz gemäß der vorliegenden Erfindung erhielten, bei welchem Hefezellwandprodukte in Anwesenheit von Pektin fermentiert wurden (Gruppe 1 bis Gruppe 4).

BEISPIEL 7: CHALLENGE VERSUCH MIT MASTHÜHNERKÜKEN

[0062] 120 vier Tage alte Masthühnerküken wurden in 12 Gruppen à 10 Tiere aufgeteilt und ihnen oral jeweils 10^4 KBE *S. typhimurium* S3, eines nicht-pathogenen Stammes, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung verabreicht; die Tiere erhielten ein übliches Starterfutter, welchem jeweils 0,2 % eines Futtermittelzusatzes, wie in Tabelle 8 angeführt, beigefügt war. Nach einer Woche wurden die Tiere geschlachtet und das Caecum auf die Präsenz von *S. typhimurium* untersucht. Hierbei wurde der Inhalt des Caecum mit steriler Peptonlösung aufgeschlämmt und eine Verdünnungsreihe (1:10) hergestellt, die dann für die weitere Bestimmung von *S. typhimurium* herangezogen wurde.

[0063] Tabelle 8

	Futterzusatz
Gruppe 1	Futterhefe
Gruppe 2	<i>S. cerevisiae</i> Hefezellwandprodukt
Gruppe 3	Trichosporon Hefezellwandprodukt
Gruppe 4	Klyveromyces Hefezellwandprodukt

Gruppe 5	S. cerevisiae Hefezellwandprodukt mit Pektinzusatz in der Fermentationslösung
Gruppe 6	Trichosporon Hefezellwandprodukt mit Pektinzusatz in der Fermentationslösung
Gruppe 7	Klyveromyces Hefezellwandprodukt mit Pektinzusatz in der Fermentationslösung
Gruppe 8	Mix aus S. cerevisiae Hefezellwandprodukt + Glucuronsäure
Gruppe 9	Mix aus Trichosporon Hefezellwandprodukt + Glucuronsäure
Gruppe 10	Mix aus Klyveromyces Hefezellwandprodukt + Glucuronsäure
Gruppe 11	Glucuronsäure
Gruppe 12	Pektin

[0064] Tabelle 9 zeigt Anzahl der Tiere die positiv auf S. typhimurium im Caecum getestet wurden.

[0065] Tabelle 9

Gruppe 1	10
Gruppe 2	9
Gruppe 3	8
Gruppe 4	9
Gruppe 5	2
Gruppe 6	4
Gruppe 7	3
Gruppe 8	8
Gruppe 9	9
Gruppe 10	8
Gruppe 11	10
Gruppe 12	10

[0066] Die Ergebnisse des vorliegenden Versuchs zeigen, dass jene drei Gruppen, welchen Hefezellwandprodukte mit Pektinzusatz in der Fermentationslösung verabreicht wurden (Gruppe 5 bis Gruppe 7), bedeutend seltener auf S. typhimurium im Caecum getestet wurden.

BEISPIEL 8: CHALLENGE VERSUCH MIT MASTHÜHNERKÜKEN

[0067] 600 Tagesküken der Rasse Ross mit einem Anfangsgewicht von etwa 37,4 g wurden in vier Gruppen à 150 Tiere aufgeteilt und jeweils in Käfige für 25 Tiere mit Holzboden und Maschendraht, um eine Migration bzw. Vermischung der Tiere hintanzuhalten, aufgeteilt. Die klimatischen Bedingungen und das Beleuchtungsprogramm waren computergesteuert und wurden automatisch entsprechend den Standardanforderungen für Küken reguliert und täglich überprüft.

[0068] Nach dem Einsetzen in die Käfige wurden den Tieren experimentelle Fütterungen ohne Kokzidiostatika zur Verfügung gestellt. Es wurde ein 2-Phasen-Fütterungssystem durchgeführt, mit einem Starterfutter von Tag 1 bis Tag 14 und einem Wachstumsfutter von Tag 15 bis Tag 35. Futter und Wasser wurden den Tieren ad libitum zur Verfügung gestellt und die Fütterung wurde händisch durchgeführt.

[0069] A - Vergleichsgruppe (kein Futtermittelzusatz)

[0070] B - Zellwandprodukt 0,1 % (fermentiert auf Pektin) + Probiotikamischung 1)

[0071] C - Zellwandprodukt 0,1 % (fermentiert auf Pektin)

[0072] D - Zellwandprodukt 0,1 % (fermentiert auf Pektin) + Probiotikamischung 2)

[0073] Probiotikamischung 1: Eubacterium sp. (DSM 11798), Lactobacillus reuteri (DSM 21288), Lactobacillus salivarius (DSM 16351) und Lactobacillus sobrius (DSM 21285)

[0074] Probiotikamischung 2: Enterococcus faecium (DSM 19746), Bifidobacterium thermophilum (DSM 19765), Pediococcus acidilactici (DSM 16210) und Enterococcus faecium (DSM 3530)

[0075] Die klinische Beobachtung wurde zwei Mal pro Tag durchgeführt und alle Merkmale aufgezeichnet. Am Beginn und am Tag 14 wurde das Gewicht der Tiere durch Gruppenwägung gemessen und am Tag 35 wurde jedes Tier einzeln gewogen. Die abgegebene Futtermenge wurde regelmäßig aufgezeichnet. Alle Tiere wurden durch den Tierarzt regelmäßig überwacht.

[0076] Das Ergebnis des Versuchs ist in Tabelle 10 gezeigt.

[0077] Tabelle 10:

	Vergleich -A	B	C	D
Anzahl der Tiere	150	150	150	150
Gewicht Tag 1 (g)	37,37	37,33	37,47	37,40
Gewicht Tag 14 (g)	325,62	334,33	310,62	296,87
Endgewicht (kg)	1380,70	1569,52	1415,24	1432,60
Tägl. Gewichtszunahme (g)	38,38	43,78	39,37	39,86
Futterumwandlung (kg/kg)	2,02	1,82	1,75	1,87
Sterblichkeit (%)	5,33	2,67	4,67	2,67

[0078] Aus Tabelle 10 kann ersehen werden, dass jene Tiere, welche ein Zellwandprodukt, das auf Pektin fermentiert wurde und zusätzlich eine probiotische Mischung erhielten (Gruppe B und Gruppe D), die geringste Sterblichkeit und außerdem das höchste Endgewicht aufwiesen.

BEISPIEL 9: FUTTERMITTELVERSUCH MIT WOLFSBARSCHEN

[0079] Ein Versuch mit Wolfsbarschen wurde am Aqua Center for applied animal nutrition in Thailand durchgeführt. Wasserqualitätsparameter, insbesondere Temperatur, gelöster Sauerstoff, Nitrite, Nitrate und Ammonium wurden wöchentlich überprüft. Jeweils 35 Jungfische mit einem Gewicht von 18 ± 1 g wurden in einen 300 l Versuchstank mit kontinuierlicher Belüftung gegeben und für eine Woche an die Bedingungen des Versuchs akklimatisiert. Während der Versuchsdauer von 56 Tagen erhielten die Fische bezogen auf ihr Gewicht 5 % Futter täglich, wobei dies in drei Portionen verabreicht wurde. Während in den ersten sechs Wochen der Versuchsdauer optimale Bedingungen eingehalten wurden, wurden die Fische für die letzten beiden Wochen unter Stress gesetzt, nämlich durch Entfernung des Tankdeckels, was einerseits zur Belastung durch direkte Sonneneinstrahlung und andererseits zu erhöhtem Infektionsdruck führte. Der Gesamtversuch wurde in einem sogenannten complete block design (CBD) durchgeführt, mit sieben Versuchsgruppen und jeweils vier Wiederholungen pro Versuchsgruppe. Das Ergebnis des Versuchs ist in Tabelle 11 gezeigt.

- Gruppe 1 - Kontrolle
- Gruppe 2 - Futter mit 0,5% Zusatz an Hefeprodukt, fermentiert mit Zusatz von Pektin
- Gruppe 3 - Futter mit 0,2% Zusatz an Hefeprodukt, fermentiert mit Zusatz von Pektin
- Gruppe 4 - Futter mit 0,2% Zusatz an Hefeprodukt, fermentiert mit Zusatz von Pektin und säurebehandelt
- Gruppe 5 - Futter mit 0,5% Zusatz an Hefeprodukt, fermentiert ohne Zusatz von Pektin

- Gruppe 6 - Futter mit 0,2% Zusatz an Hefeprodukt, fermentiert ohne Zusatz Pektin
- Gruppe 7 - Futter mit Zusatz an Pektin.

[0080] Tabelle 11

Gruppe	Gesamtgewicht Fische/Tank Start (g)	Gesamtgewicht Fische/Tank Ende (g)	Futtermittelnutzung (Woche 7-8)	Mortalität (%)
1	654	1541	1,85	14,4
2	629	1654	1,70	8,6
3	634	1609	1,73	10,7
4	639	1607	1,78	10,0
5	644	1584	1,73	12,1
6	629	1559	2,00	8,6
7	643.	1549	1, 88	17,1

[0081] Aus Tabelle 11 ist ersichtlich, dass die Gruppen 2 bis 4, welche ein mit einem Hefeprodukt, welches mit Pektinen fermentiert wurde, versetztes Futter erhielten, das höchste Endgewicht zeigten und dass auch die Mortalität im Vergleich zu den Vergleichsgruppen deutlich herabgesetzt war.

BEISPIEL 10: FÜTTERUNGSVERSUCH MIT GARNELEN (- LITOPENAEUS VANNAMEI)

[0082] Der Versuch wurde im Aquarium durchgeführt, wobei junge Garnelen (0,4 g bis 0,5 g) als Versuchstiere verwendet wurden. Die Anzahl der Tiere war 21 Garnelen pro Aquarium. Die verschiedenen auf Hefe basierenden Produkte wurden dem Futter mit einer Konzentration von 0,2 % zugefügt. Das standardisierte Versuchsdesign umfasste 8 Versuchsgruppen mit jeweils drei Wiederholungen.

[0083] Die Garnelen wurden über einen Zeitraum von 7 Tagen einem Stresstest ausgesetzt, wobei die Wasserzirkulation für 2 h pro Tag herabgesetzt wurde; Wassererneuerung erfolgte nur für jeweils 1 h am Vormittag und 1 h am Nachmittag.

[0084] Die Wasserqualität wurde wöchentlich auf Temperatur, Salzgehalt, pH, Ammonium, Nitrite, Nitrate untersucht. Vor Versuchsbeginn erhielten alle Tiere dasselbe Standardfutter in einer Menge von 10 % ihres Körpergewichtes pro Tag. Die Mortalität wurde täglich aufgezeichnet. Das Ergebnis des Versuchs ist in Tabelle 12 gezeigt.

[0085] Tabelle 12

Versuchsgruppe	Anzahl Tage	Start- gewicht	End- gewicht	Wachs- tum	Morta- lität
Kontrolle	42	10,6	56,3	45,7	20,6
Hefeprodukt 1 terminiert auf Pektinderivat	42	10,5	62,8	52,3	12,7
Hefeprodukt 2 terminiert auf Pektinderivat	42	10,7	59,5	48,8	23,8
Hefeprodukt 1, ohne Pek- tinderivat fermentiert	42	10,8	52,6	41,8	25,4
Hefeprodukt 1, ohne Pek- tinderivat fermentiert	42	10,5	54,9	44,4	27,0

Pektin	42	10,4	54,4	40,0	25,4
Hefeprodukt 1, fermentiert auf Pektinderivat plus Probiotikamix	42	10,3	58,7	48,4	17,5

[0086] Aus Tabelle 12 kann ersehen werden, dass jenen Gruppen von Tieren, welche ein Hefeprodukt, das auf einem Pektinderivat fermentiert wurde, zugefüttert wurde, nicht nur das höchste Endgewicht und größte Wachstum aufwiesen, sondern dass auch die Mortalität im Vergleich zu Kontrollgruppen herabgesetzt war.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung eines Futtermittelzusatzes für Monogastrier, in welchem ein Fermentationsmedium, enthaltend mindestens eine Kohlenstoffquelle, Stickstoffquelle, Vitamine, Makro- und Mikroelemente, mit einer Hefekultur inokuliert wird, das mit der Hefekultur inokulierte Fermentationsmedium in einem Fermenter bei Temperaturen zwischen 25°C und 35°C für mehrere Stunden inkubiert und gegebenenfalls autolysiert wird, wobei die Autolyse über einen Zeitraum von mehreren Stunden bei leicht saurem pH-Wert und bei Temperaturen zwischen 25°C und 80°C durchgeführt wird, und anschließend einem Aufkonzentrierungs- bzw. Abtrenn- und Trockenschritt unterworfen wird, **dadurch gekennzeichnet**, dass dem Fermentationsmedium Pektine, Pektinbestandteile, Pektinderivate zugesetzt werden, und dass das Fermentationsmedium nach einem Abtrennen von flüssigen Bestandteilen und vor dem Trockenschritt einer Säurebehandlung unterworfen wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass dem Fermentationsmedium Pektine, Pektinbestandteile und/oder Pektinderivate in einer Menge von 0,25 g/l bis 20 g/l, insbesondere von 1 g/l bis 4g/l zugesetzt werden.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass in der Hefekultur wenigstens eine Hefe, gewählt aus der Gruppe *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, *Trichosporon mycotoxinivorans*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida utilis* und *Rhodotorula sp.* eingesetzt wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1, 2 oder 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass in der Hefekultur wenigstens eine Hefe, gewählt aus der Gruppe *Saccharomyces cerevisiae* DSM 22708, *Trichosporon mycotoxinivorans* DSM 14153, *Kluyveromyces lactis* DSM 22709, *Candida utilis* DSM 22710 und *Rhodotorula sp.* eingesetzt wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Säurebehandlung durch Resuspendieren von festen Bestandteilen des Fermentationsmediums, insbesondere Hefezellwänden, in einer verdünnten organischen Säure, vorzugsweise Essigsäure, Zitronensäure oder Ameisensäure vorgenommen wird.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass im Fermentationsmedium Zubereitungen aus pektinhaltigen Pflanzen bzw. pektinhaltigen Pflanzenbestandteilen, wie Isländisch Moos, Erdbeerblätter, Kranbeeren, Karotten, Äpfel oder Apfeltrester eingesetzt werden.
7. Futtermittelzusatz für Monogastrier, enthaltend mindestens eine Kohlenstoffquelle, Stickstoffquelle, Vitamine, Makro- und Mikroelemente und getrocknete Hefen bzw. Hefebestandteile, **dadurch gekennzeichnet**, dass Pektin, Pektinbestandteile oder Pektinderivate enthaltende Hefezellwände sowie wenigstens eine Säure, vorzugsweise Essigsäure, Ameisensäure oder Zitronensäure enthalten sind.
8. Futtermittelzusatz nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass zusätzlich wenigstens ein Mikroorganismus gewählt aus *Eubacterium sp.* DSM 11798, *Enterococcus faecium* DSM 19746, DSM 3530, DSM 16211 und DSM 21913, *Lactobacillus salivarius* DSM 21286 und DSM 16351, *Bifidobacterium thermophilum* DSM 19765, *Bifidobacterium ani-*

malis DSM 16284, *Pediococcus acidilactici* DSM 16210, *Lactobacillus sobrius* DSM 21285, *Lactobacillus reuteri* DSM 21288 und DSM 21443 enthalten ist.

9. Futtermittelzusatz nach Anspruch 7 oder 8, **dadurch gekennzeichnet**, dass zusätzlich ein Träger ausgewählt aus Bentoniten, Zeolithen, Calciumkarbonat, Magnesiumkarbonat, Albumin, Stärke, Süßmolkepulver, Maltodextrinen, Lactose, Inulin oder Dextrosen, und/oder prebiotischen Substanzen, gewählt aus Fructo-Oligosacchariden, Inulinen, Isomalto-Oligosacchariden, Lactitol, Lactosucrose, Lactulose, Pyrodextrinen, Soja-Oligosacchariden, Transgalacto-Oligosacchariden, Xylo-Oligosacchariden oder Vitaminen enthalten ist.

Hierzu keine Zeichnungen